

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Biokemian laitos	
Tekijä — Författare			
Tuomas Heiskanen			
Työn nimi — Arbets titel			
Aspartyyli-glukosaminidaasi: Lysosomaalinen entsyymi			
Oppiaine — Läroämne			
Biokemia			
Työn laji — Arbets slag		Aika — Datum	
Pro Gradu		Tammikuu 1994	
Tutkimus — Referat		Sivumäärä — Sidoantal	
		57	
<p>Työssäni kuvaan aspartyyli-glukosaminidaasi-entsyymin (AGA, glykosyyli-asparaginaasi, EC 3.5.1.26) tutkimusta kokonaisuudessaan.</p> <p>Työn kokeellinen osa on suoritettu Kansanterveyslaitoksessa prof. Leena Palotien johtamassa Lääketieteellisen molekyyli-genetiikan laboratoriossa 1.2.1991-20.10.1991. Työn ohjaajana toimi neljä vuotta Yhdysvalloissa AGAa tutkinut Tri Ole K. Tollersrud. AGA on lysosomaalinen amidaasi, jonka mutatoitunut muoto aiheuttaa suomalaisen tautiperimään kuuluvan lysosomaalisen kertymäsairauden aspartyyli-glukosaminurian (AGU). AGU-tapauksia on Suomessa diagnosoitu noin 200 ja muualla maailmassa noin 45.</p> <p>Työn kirjallisuuteen perustuvassa osassa kuvaan AGA-entsyymin tutkimusta ja AGU-tautia molekulaarisella tasolla. Erityisesti keskityn intrasellulaarisen prosessoinnin ja entsyymin katalyyttisen mekanismin tutkimuksen kuvaukseen. AGAn cDNA:n eristämiseen sovellettiin PCR-tekniikkaa ja puhdistetun AGA-proteiinin kemiallista fragmentaatiota yleispätevän tuntuisella ja biokemiallisesti mielenkiintoisella tavalla. Kuvaan ko. tekniikan kehittymistä ja sen soveltamista AGAn cDNA:n eristämiseen.</p> <p>Työni kokeellisessa osassa kuvaan, kuinka kehitimme nopeamman ja tehokkaamman puhdistusmenetelmän AGAlle kuin käytössämme ollut, jotta entsyymin rakenteellinen ym. tutkimus helpottuisi. Tiesimme AGAn olevan resistentti korkeille natriumdodekyylisulfaattipitoisuuksille (negatiivisesti varautunut detergentti) toisin kuin useimmat proteiinit, ja onnistuimme kehittämään tähän ominaisuuteen nojaten uuden puhdistusstepin, joka mahdollistaa AGAn 5000-kertaisen preparatiivisen luokan puhdistuksen ihmisen leukosyyteistä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
Aspartyyli-glukosaminidaasi, puhdistus, SDS-resistanssi			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Biokemian laitos			
Muut tiedot — Övriga uppgifter			